Product sheet

Κύτταρα SK-N-LO | 300400

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά SK-N-LO είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά νευροβλαστώματος που χρησιμοποιείται στην έρευνα για τη μελέτη του νευροβλαστώματος καθώς και των μηχανισμών απόπτωσης και των μονοπατιών σηματοδότησης του καρκίνου. Ταξινομείται επίσης ως κυτταρική σειρά αρχέγονου νευροεκδερμικού όγκου (PNET) και φέρει το γονίδιο σύντηξης EWS-FLI1, το οποίο συναντάται συνήθως στους όγκους της οικογένειας σαρκώματος Ewing (ESFT). Αυτό το γονίδιο σύντηξης προκύπτει από χρωμοσωμική μετάθεση και διαδραματίζει βασικό ρόλο στην ογκογόνο συμπεριφορά αυτών των καρκινικών κυττάρων. Τα κύτταρα SK-N-LO είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα σε ορισμένους αναστολείς που στοχεύουν σε ογκογενετικά μονοπάτια σηματοδότησης. Για παράδειγμα, ο αναστολέας GLI GANT61 έχει αποδειχθεί ότι επάγει την ανεξάρτητη από την κασπάση απόπτωση σε κύτταρα SK-N-LO. Ο GANT61 διαταράσσει τη μεταγραφή που διαμεσολαβείται από το GLI1 και το GLI2 στο σηματοδοτικό μονοπάτι Hedgehog (Hh), το οποίο είναι κρίσιμο για την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων σε αυτή την κυτταρική σειρά. Όταν υποβάλλονται σε θεραπεία με το GANT61, τα κύτταρα SK-N-LO εμφανίζουν μορφολογικές αλλαγές που σχετίζονται με την απόπτωση, όπως συμπύκνωση της χρωματίνης και κατακερματισμό του πυρήνα. Επιπλέον, το GANT61 μειώνει την έκφραση πρωτεϊνών όπως η GLI2 και η survivin, οι οποίες είναι σημαντικές για την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου και την επιβίωση, ενώ αυξάνει την έκφραση της p21, ενός αναστολέα της κυκλινοεξαρτώμενης κινάσης. Επιπλέον, τα κύτταρα SK-N-LO έχουν χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη της σηματοδότησης των υποδοχέων οπιοειδών. Αυτά τα κύτταρα έχουν τροποποιηθεί ώστε να εκφράζουν τον υποδοχέα μ-οπιοειδών, γεγονός που τα καθιστά πολύτιμο μοντέλο για τη διερεύνηση της αλληλεπίδρασης μεταξύ της επαγόμενης από οπιοειδή αναλγησίας και των ενδοκυτταρικών μονοπατιών σηματοδότησης. Για παράδειγμα, μελέτες έχουν δείξει ότι η μορφίνη διεγείρει τη φωσφορυλίωση της Akt στα κύτταρα SK-N-LO μέσω του μονοπατιού PI3Kγ, μια διαδικασία που μπορεί να διαμορφωθεί από τη σηματοδότηση cAMP. Αυτό αναδεικνύει την ευελιξία των κυττάρων SK-N-LO στη διερεύνηση τόσο της βιολογίας του καρκίνου όσο και της νευροφαρμακολογίας.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Εγκέφαλος
Disease	Αρχέγονος νευροεκδερμικός όγκος
Metastatic site	Μυελός των οστών
Synonyms	SK-N-L0, SKN-LO, SKNLO

Χαρακτηριστικά

Age	10 χρόνια
Gender	Άντρας
Ethnicity	Καυκάσιος

Κύτταρα SK-N-LO | 300400

Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Προσκολλώνται σε φιάλες επικαλυμμένες με κολλαγόνο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	SK-N-LO (αριθμός καταλόγου Cytion 300400)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4569

Βιομοριακά δεδομένα

Karyotype	Προϊόν συχνότητας φαινοτύπων: 0.00005

Χειρισμός

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Split ratio	Συνιστάται αναλογία από 1:6 έως 1:12
Seeding density	3 έως 4 x 10^4 κύτταρα/cm^2

Κύτταρα SK-N-LO | 300400

Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε 50% βασικό μέσο + 40% FBS + 10% DMSO ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα

Κύτταρα SK-N-LO | 300400

Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.
Προφίλ STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 11,12 **D13S317**: 8,11 **D16S539**: 12 **D5S818**: 11,12 **D7S820**: 11 **TH01**: 10 **TPOX**: 8,11 **vWA**: 14,17 **D3S1358**: 14,17 **D21S11**: 27,28 **D18S51**: 12 **Penta E**: 7 **Penta D**: 9,13 **D8S1179**: 12:15 **FGA**: 25

Κύτταρα SK-N-LO | 300400

HLA αλληλόμορφα	**A***: '24:02:01, '29:02:01 **B***: '18:01:01, '58:01:01 **C***: '05:01:01, '07:18:01 **DRB1***: '03:01:01, '08:04:01 **DQA1***: '04:01:02, '05:01:01 **DQB1***: '02:01:01, '04:02:01 **DPB1***: '02:01:02, '13:01:01 **E**: '01:01, '01:03